

На правах рукописи

Бабро Анастасия Александровна

**РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ**

***Rhododendron schlippenbachii* Maxim. и *Rhododendron luteum* Sweet  
(*Ericaceae*)**

03.00.05 – «Ботаника»

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2009

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН

Научный руководитель доктор биологических наук  
Шамров Иван Иванович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник  
Камелина Ольга Петровна  
доктор биологических наук,  
профессор  
Найда Надежда Михайловна

Ведущая организация Санкт-Петербургская  
государственная лесотехническая  
академия им. С.М. Кирова

Защита состоится **10 июня 2009 г. в 14 часов** на заседании диссертационного совета Д 002.211.01 при Учреждении Российской академии наук Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН по адресу: 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2.  
Тел. (812)346-47-06, факс (812) 346-36-43

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН

Автореферат разослан «    » мая 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

О.Ю. Сизоненко

## Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Процессы воспроизведения и размножения цветковых растений всегда находятся в центре внимания исследователей. В рамках репродуктивной биологии крайне важно выявить основные параметры, которые определяют репродуктивный успех (Злобин, 2000). Особенно это касается растений в условиях интродукции, когда семенное размножение сопряжено с рядом трудностей. Разработка теоретических основ семенного размножения растений и выявление пластичности систем репродукции являются залогом успешного применения новых нестандартных технологий в генетике, селекции и семеноводстве (Батыгина, 1974, 1987; Кордюм, 1978; Boesewinkel, Vouman, 1984; Терехин, 1996 и др.).

Семенное размножение является наиболее доступным и эффективным способом получения устойчивого в данном регионе посадочного материала интродуцентов. К растениям, плодоношение и семенная продуктивность которых являются малоэффективными в условиях интродукции по сравнению с этими же показателями в местах естественного произрастания, относятся рододендрон желтый (*Rhododendron luteum* Sweet) и рододендрон Шлиппенбаха (*R. schlippenbachii* Maxim.) из семейства *Ericaceae* (Александрова, 1976; Александрова, Зорикова, 1974; Якобсон, 1969). Указанные виды относятся к ресурсным растениям. Оба вида рододендрона, как и большинство представителей этого рода, являются красивоцветущими кустарниками, поэтому основная область их применения – декоративное садоводство. *R. luteum* является лекарственным растением, части которого содержат танины и эфирные масла (Александрова, 1970, 1975, 1989; Кондратович, 1981).

*R. schlippenbachii* Maxim включен в Красную книгу РФ и нуждается в сохранении. Лесные пожары, выкопка, массовый сбор и промышленная заготовка побегов рододендронов в местах их естественного произрастания ведет к снижению численности популяций и ставит под угрозу существование вида (Александрова, 1975; Кондратович, 1981). В связи с этим предлагается создать особые плантации рододендронов (Кондратович, 1981; Вриш, 2000).

**Цель исследования** - изучение репродуктивной биологии и эмбриологии *Rhododendron luteum* и *R. schlippenbachii* в условиях интродукции.

**Задачи исследования:**

1. Изучить строение генеративной почки, цветка и основных репродуктивных органов (андроцея, гинецея).
2. Исследовать формирование пыльника, выявить закономерности генезиса стенки микроспорангия, особенности микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен.
3. Провести детальное изучение структур семязачатка, мегаспорогенеза и развития зародышевого мешка.
4. Выявить некоторые аспекты антэкологии (цветение, опыление, прорастание пыльцы).
5. Изучить основные стадии развития зародыша и эндосперма и окружающих структур семени.
6. Исследовать некоторые аспекты биологии прорастания семени.

**Научная новизна работы.** Репродуктивная биология *R. schlippenbachii* исследована впервые. Детально прослежена антэкология и составлена полная эмбриологическая характеристика рода *Rhododendron* с учетом оригинальных и литературных данных. Полученные данные вносят определенный вклад в характеристику семейства *Ericaceae*. Особенно это касается генезиса андроцея, гинецея, пыльника и семязачатка. На основании результатов проведенного исследования уточнен тип формирования стенки микроспорангия, тип гинецея и плацтации, генезис семязачатка на плаценте, его морфологический тип, строение нуцеллуса, тип развития зародыша и эндосперма.

**Практическая значимость работы.** Полученные результаты могут быть использованы для разработки мер по улучшению семенной продуктивности рододендронов в условиях интродукции, при их культивировании и селекционной работе.

**Апробация.** Материалы, содержащиеся в диссертационной работе, были представлены на II Международной конференции по анатомии и морфологии растений (Санкт–Петербург, 14–18 октября 2002 г.) I Международной школе

для молодых ученых «Эмбриология и биотехнология» (4-9 декабря 2005 г.), доложены на VII Молодежной конференции ботаников в Санкт-Петербурге (15–19 мая 2000 г.), I (IX) Международной Конференции Молодых Ботаников в Санкт-Петербурге (21-26 мая 2006 г.), на заседаниях научного семинара Лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе статей в рецензируемых журналах – 3, в сборниках трудов научных мероприятий – 3, тезисов – 7.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов и списка литературы (210 наименований, в том числе 76 на иностранных языках). Работа изложена на 150 страницах, включает 7 таблиц, 53 рисунка.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассмотрены вопросы систематики рода *Rhododendron*, проведен анализ имеющихся данных по репродуктивной биологии его представителей и особенностям практического использования рододендронов.

У обоих видов развитие репродуктивных органов охватывает два вегетационных периода. Их заложение обычно начинается в июле-августе, в период покоя растения вступают в конце сентября–начале октября, развитие бутонов возобновляется в марте-апреле следующего года.

*R. schlippenbachii* практически не изучен в эмбриологическом отношении. Из рододендронов умеренной зоны, выращиваемых на территории России, исследованы в разной степени *R. mucronulatum*, *R. luteum*, *R. catawbiense*. Чаще всего описываются отдельные черты строения гинецея, андроцея, морфология тычинок и отдельные стадии развития пыльника и семязачатка (Александрова, 1975, 1989; Кондратович, 1981; Пачулия, 1982; Palser et al., 1991; Escaravage et al., 1997, 2001). Фрагментарны данные по формированию семязачатка и микроспорангия, особенностям эндоспермо- и эмбриогенеза, состоянию репродуктивных структур в различные периоды вегетации

(Якобсон, 1969, 1976; Пачулия, 1982; Palser et al., 1991). Результаты по закономерностям образования стенки микроспорангия (Батыгина и др., 1963; Якобсон, 1968, 1969, 1974; Hermann, Palser, 2000) и генезису семязачатка (Якобсон, 1976; Palser et al., 1989) трактуются неоднозначно.

## ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Наблюдения за растениями *R. schlippenbachii* и *R. luteum*, произрастающими в открытом грунте, и сбор материала проводился в течение 1999-2008 гг. в ботанических садах Санкт-Петербурга (СПбГЛА и БИН РАН); в исследование для сравнения был включен материал из дендрариев Приморского края.

Для обработки и визуальной оценки живого и зафиксированного материала были применены стереоскопические микроскопы МБС-1, Stemi 2000C (Zeiss). Фиксация и изготовление препаратов проводились по общепринятой цитоэмбриологической методике (Паушева, 1974; Барыкина и др., 2000, 2004). Исследование материала проводилось методом световой (Carl Zeiss Jena, Zeiss Axioskop 2, Zeiss Axioplan2 *Imaging*) и сканирующей электронной (JSM-35) микроскопии. Микрофотографии получены с помощью фотокамер, установленных на указанном оборудовании. Рисунки выполнены с использованием рисовального аппарата РА-7У. Изображения растений и частей цветка получены методом фотографирования и сканерографии (Герасимов, 2004).

Для проверки готовности рыльца пестика к опылению был применен 1% раствор перманганата калия (Robinson, 1924). Фертильность пыльцы (свежей и зафиксированной в FAA) определяли ацетокарминовым методом (Паушева, 1974). Жизнеспособность пыльцы проверяли методом прорастивания по Д.А. Транковскому и в модификации Кокшеевой и Ломакиной (Паушева, 1974; Кокшеева, Ломакина, 2003). Всхожесть семян определялась согласно ГОСТ – 13056.6-75.

Статистическая обработка данных была проведена согласно общепринятой методике (Зайцев, 1990). Вычисления были проведены в электронной таблице Microsoft Excel.

## ГЛАВА III. ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ И ЭКОЛОГИИ РОДОДЕНДРОНОВ

Рассмотрены условия произрастания и экологические требования, как исследуемых видов, так и некоторые общие для представителей рода *Rhododendron*.

Одним из наиболее важных условий успеха интродукции является соблюдение требований агротехники. При введении рододендронов в культуру используются особые методы и приемы выращивания, разработка которых невозможна без учета биологических и экологических особенностей растений.

Наблюдение за состоянием растений *R. schlippenbachii* показало, что у этого вида велика вероятность массового повреждения бутонов и цветков весенними заморозками. Такие рекомендуемые приемы, как затенение и укрытие снегом, способны уменьшить влияние относительно небольших колебаний температуры и заморозков, по-видимому, за счет задержки наступления более уязвимых фенофаз. В то же время, при длительных и существенных понижениях температуры в период цветения подобные способы защиты не дают результата. Однако посадка растений рододендрона Шлиппенбаха в местах с пониженной вероятностью заморозков (у водоемов, под деревьями) позволяет в значительной степени сохранить его цветки от повреждения.

По сравнению с *R. schlippenbachii*, *R. luteum* зацветает позже, когда вероятность весенних заморозков значительно ниже. Именно поэтому у растений этих видов причины и степень повреждения репродуктивных структур различны. Повреждение генеративных почек *R. luteum* происходит, как правило, только под действием низких температур в течение зимнего периода и перепадов температур ранней весной; обмерзание цветков и бутонов этого вида, зацветающего значительно позже, чем *R. schlippenbachii*, не наблюдается.

## ГЛАВА IV. РАЗВИТИЕ И СТРОЕНИЕ АНДРОЦЕЯ И ПЫЛЬНИКА У ВИДОВ *RHODODENDRON*

У многих видов *Rhododendron* описан диморфизм тычинок при двухкруговом расположении (Macqueen Cowan, Davidian, 1948; Александрова, 1975, 1989; Кондратович, 1981; Escaravage et al., 1997, 2001; Danet, 2005). У *R. schlippenbachii* андроцей представлен 10 тычинками в двух кругах. Анализ строения цветка показал, что разнообразие тычинок по таким характеристикам, как «длинные» и «короткие», «верхние» и «нижние», не указывает на их принадлежность к разным кругам. По морфологическим критериям тычинки можно подразделить на 3 группы: верхние, средние и нижние. У *R. luteum* андроцей образован 5 тычинками без существенных морфологических различий, расположенными в один круг. Характерная для большинства представителей *Ericaceae* (Якобсон 1968; Hermann, Palser, 2000) инверсия пыльников, в результате которой морфологически нижний конец пыльника становится вторично апикальным, осуществляется у исследуемых видов на самых ранних стадиях дифференциации тычинки, в ходе конгенитального срастания, и на стадии образования спорогенных клеток этот процесс полностью завершается; иногда отмечается неполная инверсия тычинок на более поздних стадиях.

Существуют различные точки зрения на происхождение слоев внутренней области стенки микроспорангия (Steffen, Landmann, 1958; Камелина, 1994; Carniel, 1961; Батыгина, 1974; Bhandari, Khosla, 1982; Батыгина и др., 1963; Терехин и др., 1993; Якобсон, 1968, 1969, 1974; Hermann, Palser, 2000). Однако имеющиеся данные по развитию пыльника у представителей сем. *Ericaceae* не однозначны в своей интерпретации. В свете представлений И.И.Шамрова (2006) и исходя из полученных нами результатов, мы считаем, что все слои микроспорангия, а также спорогенная ткань возникают на базе клеток (чаще всего они закладываются в числе 3), дифференцирующихся на самых ранних стадиях формирования бутона в субэпидерме каждого формирующегося микроспорангия. Центральная субэпидермальная клетка отделяет внутрь инициаль проксимальной части стенки микроспорангия и наружу археспориальную клетку, которая образует затем спорогенную и



париетальную клетки (последняя инициирует образование всех слоев с дистальной стороны микроспорангия); латеральные субэпидермальные клетки образуют латеральные части стенки микроспорангия. Эти представления во многом совпадают с трактовкой данных, полученных Якобсон (1968, 1969, 1974).

У изученных нами видов *Rhododendron* слои стенки микроспорангия с дистальной стороны формируются в соответствии с типом двудольных (Davis, 1966), или компликатной вариацией центробежного типа: париетальный слой делится на два слоя, из них внутренний дифференцируется в тапетум, а наружный – за счет делений образует ткань средних слоев (Терехин и др., 1993).

Вследствие асинхронного развития тычинок *R. schlippenbachii* в верхних (длинных) тычинках еще осенью значительная часть микроспор, достигших стадии сильновакуолизированных с ядрами ближе к центру тетрады, подвергается деструкции. Весной, дегенерация микроспор, достигших этой стадии, обнаруживается, только в меньшей степени, в средних и коротких тычинках. У *R. luteum* процессы микроспорогенеза обычно проходят синхронно во всех тычинках, перед наступлением периода покоя в пыльниках находятся сильновакуолизированные микроспоры с ядрами на периферии тетрады, что соответствует состоянию перед делением. При нарушении развития микроспор клетки тапетума также приобретают нехарактерную для них структуру. В то же время, у многих видов (в том числе *R. luteum* и *R. schlippenbachii*), интродуцированных в Латвии, микроспорогенез происходит без отклонений. Растения уходят в состояние зимнего покоя, когда в микроспорах образуется система мелких вакуолей. Весной возникает крупная вакуоль и затем происходит деление микроспоры (Кондратович, Якобсон, 1968). На этой же стадии стабильно вступает в период зимнего покоя *Rhododendron canadense* в местах естественного произрастания (Bell, Burchill, 1955).

Вероятно, при переходе от мейотического к постмейотическому периоду развития пыльника стадия сильновакуолизированной микроспоры является критической (Batygina, Vasilyeva, 2003). У *R. luteum* аномалии в процессе

формирования микроспор единичные, так как вакуолизация и перемещения ядер происходят, вероятно, быстрее и в более благоприятные календарные сроки (конец августа-начало сентября). У *R. schlippenbachii* в середине сентября ядра в большинстве микроспор находятся на более ранней (в центре тетрады), критической, стадии развития. Поэтому такие микроспоры чаще подвергаются неблагоприятному воздействию изменчивых факторов окружающей среды. Значительная степень фертильности пыльцы при большом количестве микроспор и пыльцевых зерен аномального строения у *R. schlippenbachii* позволяет предположить, что часть их в процессе развития пыльника полностью дегенерирует или бутоны с большим количеством нарушений не развиваются.

## **ГЛАВА V. РАЗВИТИЕ И СТРОЕНИЕ ГИНЕЦЕЯ И СЕМЯЗАЧАТКА У ВИДОВ *RHODODENDRON***

Исследование показало, что строение гинецея у исследованных видов различается от основания завязи до рыльца. Гинецей возникает как паракарпный, и таким его строение сохраняется вверху завязи. Однако в середине завязь становится ложно 5-гнездной за счет соприкосновения плацент, а в основании – 5-гнездной как в синкарпном гинецее в результате постгенитального срастания плацент в центре. Рыльце (кроме самостоятельных лопастей, как в апокарпном гинецее) и столбик напоминают структуру одногнездного паракарпного гинецея. Подобное строение столбика, рыльца и завязи в средней части было описано также у некоторых видов *Rhododendron* (Palser et al., 1989, 1991). Плацентация в верхней части завязи (до границы со столбиком) париетальная, в средней - сутурально-угловая и нижней – центрально-угловая. У исследованных видов на каждой плаценте развивается 25-75 семязачатков, располагающихся в 4 ряда с небольшим смещением относительно друг друга. В развитии гинецея и семязачатка выявлены нарушения: недоразвитие одной, а иногда и двух плацент, у *R. luteum* - полное срастание плодолистиков с образованием синкарпной завязи.

Образованию примордия семязачатка предшествуют деления клеток в апикальной части плацентарного выроста. В центре формирующегося примордия происходит периклинальное деление крупной центральной субэпидермальной клетки: верхняя производная становится археспориальной клеткой, которая без отделения париетальной клетки преобразуется в мегаспороцит, а нижняя клетка вместе с дериватами, возникшими в результате делений клеток третьего слоя плаценты, образует осевые ряды. У *R. luteum*, как и у *Vaccinium myrtillus* (*Ericaceae*) (Anisimova, Shamrov, 2000; Анисимова и др., 2005), инициация семязачатка происходит за счет периклинальных делений не одной, а трех субэпидермальных клеток плаценты. В отличие от *R. schlippenbachii*, у указанных выше видов обнаружено образование потенциально многоклеточного археспория.

Сформированный семязачаток у исследованных видов является гемикампилотропным, медионуцеллярным, унитегмальным, мезохалазальным и сессильным (в соответствии с терминологией, предложенной И.И.Шамровым, 1999, 2002, 2007). Полученные нами результаты согласуются с литературными данными лишь относительно происхождения и строения интегумента, а также отсутствия собственно фуникулуса. Следует отметить, что наличие фуникулуса наблюдается у отдельных видов *Rhododendron* в норме или при нарушении морфогенеза (Palser et al., 1990, 1991). Считается, что семязачаток у рододендронов анатропный и tenuинуцеллярный (Якобсон, 1969, 1976; Пачулия, 1982; Palser et al., 1991).

Интегумент имеет дермальное происхождение. Сначала он 2-слойный, постепенно число слоев увеличивается до 5-6 (*R. luteum*) или 6-7 (*R. schlippenbachii*). Эндотелий у рододендронов окружает большую часть зародышевого мешка, после оплодотворения разрушается. У изученных нами видов этот слой не доходит до антипод (*R. schlippenbachii*) либо его нижняя граница проходит на уровне основания интегумента и гипостазы. Со стороны рафе он представлен 1-2 слоями, что было ранее отмечено у *R. hirsutum* (Palser et al., 1991).

Впервые для рода *Rhododendron* прослежен генезис гипостазы, инициация которой происходит с началом дифференциации примордия семязачатка. В сформированном семязачатке она имеет форму чаши и состоит из 2 слоев таблитчатых густоплазменных клеток. Ее клеточные стенки не лигнифицированы. Такой тип строения гипостазы (описан и у ряда других видов *Rhododendron*) с более плотной цитоплазмой и интенсивно окрашивающимися оболочками по сравнению с окружающими клетками, называют «цитоплазматической гипостазой» (Palser et al., 1971).

Как и у большинства видов сем. *Ericaceae* (Якобсон, 1983), археспорий у изученных видов *Rhododendron* одноклеточный. Изредка у *R. catawbiense*, *R. luteum*, *R. mucronulatum* формируются две, у *R. canadense* – до 7 археспориальных клеток (Якобсон, 1969, 1976; наст. иссл; Bell, Burchill, 1955). В результате мейоза образуется линейная тетрада мегаспор, из которых функциональной становится халазальная дающая начало развитию зародышевого мешка по Polygonum-типу. Зрелый зародышевый мешок состоит из 3 клеток яйцевого аппарата (яйцеклетка и 2 синергиды), 3 антипод и центральной клетки с 2 полярными ядрами, которые сливаются до оплодотворения. Полученные данные согласуются с имеющимися данными по другим видам рододендрона (Кондратович, Якобсон, 1968; Якобсон, 1969, 1976; Palser et al., 1991; Williams et al., 1991).

Особенности женской репродуктивной сферы у *Rhododendron schlippenbachii* и *R. luteum* наиболее подробно были изучены нами в условиях интродукции (ботанические сады СПбГЛТА и БИН РАН). Проведенный анализ свидетельствует о том, что основные процессы морфогенеза гинецея и семязачатка протекают одинаково. В обоих вариантах исследования обнаружены и сходные нарушения в развитии.

## **ГЛАВА VI. АНТЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ ВИДОВ *RHODODENDRON***

При выявлении причин снижения эффективности семенной продуктивности важное значение имеют те структуры цветка, особенности развития которых

обеспечивают эффективность прорастания пыльцы, процессов опыления и оплодотворения, а также высокое качество семян.

Для видов рода *Rhododendron* характерна аллогамия. Они являются энтомофильными растениями, преобладающим способом опыления является мелиттофилия (Kudo, 1993; Ng, Corlett, 2000; Stout, 2007). Отсутствие опылителей в период цветения указывается в качестве одной из причин низкой завязываемости плодов (Якобсон, 1969б; Ng, Corlett, 2000). Механизмами, препятствующими автогамии, у разных видов являются пространственная и временная изоляция пыльников и рыльца (Kudo, 1993; Escaravage et al., 1997), а также самонесовместимость (Yamaguchi, 1980; Williams et al., 1984; Padrutt et al., 1997).

Из особенностей строения цветка *R. schlippenbachii* прежде всего следует рассмотреть значение разных групп тычинок. Различия в размерах тычинок как внутри одного круга, так и между кругами описано у многих видов *Rhododendron* (Macqueen Cowan, Davidian, 1948; Александрова, 1975, 1989; Кондратович, 1981), однако этот признак обычно рассматривается в связи с вопросами систематики или как один из признаков для определения видовой принадлежности растения. Нами было высказано предположение, что диморфизм тычинок обеспечивает длительное нахождение пыльцы в цветке вследствие асинхронного вскрывания пыльников. Однако оказалось, что у *R. schlippenbachii* вскрывание пыльников происходит одновременно, зависимость качества пыльцы от группы тычинок также не прослеживается. В литературе имеются подобные результаты, полученные при исследовании *R. ferrugineum* (Escaravage et al., 1997, 2001), где делается вывод, что короткие тычинки обеспечивают автогамию в случае отсутствия опылителей.

У *R. luteum* в качестве резервной системы скрещивания на заключительных этапах цветения, когда рыльце еще способно воспринимать пыльцу, может быть автогамия, обусловленная особенностями строения венчика у этого вида. Подобный способ самоопыления известен у некоторых других представителей семейства *Ericaceae* – *Andromeda polifolia*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Cassiope tetragona* (Демьянова, 2000). С другой стороны, выявлены и механизмы,

препятствующие автогамии. Как у *R. luteum*, так и у *R. schlippenbachii* в бутоне и при раскрытии цветка наблюдается хорошо выраженная пространственная изоляция пыльников и рыльца пестика; рыльце пестика у *R. luteum* на стадии бутона и в начале цветения, когда происходит активное пыление, невосприимчиво к пыльце. Сходная с *R. luteum* динамика состояния рыльца отмечена у *R. macgregoriae* (Williams et al., 1991).

Нами был проведен эксперимент по проращиванию пыльцы *R. schlippenbachii* и *R. luteum* в присутствии рыльца соответствующего вида. Проращивалась как пыльца из того же цветка, так и пыльца с других экземпляров соответствующего вида. Во всех вариантах наблюдалось прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок в направлении рыльца, что указывает на отсутствие спорофитной самонесовместимости у исследуемых видов. Однако у рододендронов могут существовать иные механизмы самонесовместимости, проявляющиеся в более поздние сроки, включая стадию проростка (Creech, 1955; Kaul et al., 1986; Padrutt et al., 1992; Williams et al., 1985). У некоторых видов при самоопылении происходит более или менее значительное снижение семенной продуктивности по сравнению с перекрестным, как это происходит с *R. luteum* в условиях Латвии (Кондратович, Якобсон, 1968; Stout, 2007).

Исследование фертильности пыльцы *R. schlippenbachii* по ее способности окрашиваться ацетокармином выявило высокие значения этого показателя - от 61 до 92%. Однако на искусственной питательной среде прорастает 31-63% пыльцевых зерен, что, возможно, свидетельствует либо о нежизнеспособности части пыльцы у этого вида, либо о необходимости подбора другой питательной среды для проращивания. У *R. luteum* определение фертильности пыльцы не проводилось, а на искусственной среде прорастало 30-52% пыльцевых зерен, в отдельные годы пыльца не прорастала. По имеющимся литературным данным (Кокшеева, 2006), жизнеспособность пыльцы растений исследуемых видов в условиях Приморского края достигает 100%, однако в этом исследовании учитывались не отдельные проросшие пыльцевые зерна, а целые тетрады. Нами был определен соответствующий показатель для растений *R. schlippenbachii*,

выращиваемых в Ботаническом саду БИН РАН, он составил у различных экземпляров от 40 до 65%.

## VII. РАЗВИТИЕ СЕМЕНИ

Семенная кожура в зрелом семени представлена лишь наружной эпидермой, которая является дериватом наружной эпидермы интегумента (экзотестальные семена). Крупные клетки семенной кожуры у большого числа видов имеют толстые внутренние тангентальные и радиальные стенки. Поверхность семенной кожуры мелкосетчатая. Семена *R. luteum* имеют крыловидную кайму. Наши данные о строении семенной кожуры согласуются с литературными (Черняковская, 1992).

Для *R. schlippenbachii* и *R. luteum* характерна гетероспермия. Семена крупной фракции обычно содержат зародыш, эндосперм с эндоспермальной полостью и однослойную семенную кожуру. Зародыш крупный, прямой, цилиндрический, дифференцирован на органы; выявлены также зародыши иного строения. В семенах средней фракции эндосперм не полностью сформирован, а зародыш часто отсутствует. Мелкие семена представлены в основном сохранившимися клетками интегумента и халазы с утолщенными оболочками, без признаков эмбриональных структур.

Собственно зародыш развивается из клетки *ca*, в образовании суспензора участвуют клетка *cb* и частично производные *ca*. Развитие зародыша соответствует *Solanad*-типу (Якобсон, 1976), что было выявлено и в проведенном нами исследовании.

Данные о типе эндосперма у рододендронов дискутируются (Якобсон, 1976, 1983; Creech, 1955; Kaul et al., 1986; Palser et al., 1989). У исследованных нами видов эндосперм целлюлярный, развивается в соответствии с *Ericaceae*-вариацией. Однако, в отличие от литературных данных, халазальный гаусторий не 4-клеточный, он образован только двумя густоплазменными клетками.

Клетки гипостазы остаются на всем протяжении развития не утолщенными. Однако их оболочки интенсивно окрашиваются на полисахариды, что подтверждает их роль в проведении метаболитов из халазы в развивающийся

эндосперм (базальный путь транспорта). К моменту формирования 4-клеточного эндосперма в клетках гипостаза начинают дегенерировать ядра, и в зрелом семени гипостаза не сохраняется

Семена *R. schlippenbachii* из естественных местообитаний всходят на 7-15 день (Врищ, 2000), результаты проращивания семян этого вида, собранных в Санкт-Петербурге, соответствуют этим данным. Семена *R. luteum* прорастают через 10-15 дней (Шаталина, 1963); в нашем исследовании прорастание семян данного вида началось ранее, на восьмой день. В нашем исследовании всхожесть семян крупной фракции при проращивании на свету при комнатной температуре оказалась высокой и составила 85% у *R. luteum* и 89% - у *R. schlippenbachii*, то есть соответствует показателям в благоприятных условиях. Об этом же свидетельствуют и опыты по проращиванию семян на различных земельных смесях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено изучение репродуктивных структур и процессов у двух видов *Rhododendron* (*R. schlippenbachii* и *R. luteum*) из сем. *Ericaceae* для выявления причин низкой семенной продуктивности при интродукции этих видов в ботанических садах Санкт-Петербурга. Модельные растения различаются комплексом биологических и экологических особенностей: имеют разное географическое происхождение и ареалы, различное таксономическое положение внутри рода, различаются строением цветков и временем цветения.

Обоим видам присущи как общие морфологические признаки репродуктивных структур и сходные черты биологии цветения и опыления, так и особенности анэкологии, связанные с фенологическими характеристиками и особенностями строения цветка.

На эффективность плодоношения и семенную продуктивность рододендронов сильное, возможно и основное, влияние оказывают условия произрастания.

Важным аспектом генезиса пыльника *Rhododendron* является стерилизация микроспор и пыльцы у *R. schlippenbachii* вследствие асинхронного развития



пыльников и прохождения критической стадии сильновакуолизированных микроспор в пыльниках длинных тычинок в неблагоприятный по климатическим условиям период. У *R. luteum* в процессе микроспорогенеза и развития пыльцы, происходящих синхронно во всех тычинках, обнаружены лишь единичные нарушения; указанная критическая стадия проходит быстрее и в более благоприятные сроки. Можно предположить, что заложение и формирование генеративных почек у рододендронов происходит асинхронно. Генеративные почки на более продвинутой стадии при наличии благоприятных факторов окружающей среды способны продолжать свое развитие и переходить еще осенью к тем фазам морфогенеза, которые обычно достигаются весной.

Значительная степень фертильности пыльцы при большом количестве микроспор и пыльцевых зерен аномального строения у *R. schlippenbachii* позволяет предположить, что в процессе развития пыльника часть их полностью дегенерирует или бутоны с большим количеством нарушений не развиваются.

Все слои микроспорангия, а также спорогенная ткань возникают из трех клеток, дифференцирующихся на ранних стадиях в субэпидерме каждого формирующегося микроспорангия, и образующих строго определенные структуры.

Строение гинецея у исследованных видов различается от основания завязи до рыльца и может быть описано лишь согласно концепции пельтатного плодолистика, или концепции вертикальной зональности гинецея.

Полученные нами результаты о строении и развитии семязачатка согласуются с литературными данными относительно происхождения (за счет эпидермальных инициалей) и строения интегумента, а также формирования рафе и отсутствия собственно фуникулуса.

Впервые для рода *Rhododendron* прослежен генезис гипостазы, инициация которой происходит с началом дифференциации примордия семязачатка. Выявленный тип строения – цитоплазматическая гипостаза - известен также у некоторых других видов *Rhododendron*.

Данные, полученные нами по генезису гинецея и семязачатка у

исследованных видов соответствуют эмбриологической характеристике семейства *Ericaceae* (Анисимова и др., 2002; Anisimova et al., 2002; Palser et al., 1989, 1991) и вносят определенные дополнения и коррективы.

Проведенный анализ свидетельствует о том, что основные процессы морфогенеза гинецея и семязачатка растений исследуемых видов, произрастающих в ботанических садах Санкт-Петербурга и в Приморском крае, протекают одинаково. В обоих вариантах исследования обнаружены и сходные нарушения в развитии.

Отметим некоторые черты различия между исследованными видами. Виды вступают в состояние зимнего покоя на разных фазах строения мужских и женских эмбриональных структур. У *R. schlippenbachii* пыльники находятся на стадии сильновакуолизированных микроспор с положением ядер в центре тетрады, а у *R. luteum* – ядра располагаются по периферии тетрады (в состоянии перед делением). У первого вида семязачатки достигают стадии формирования функциональной мегаспоры или 2-ядерного зародышевого мешка, а у второго – стадии мегаспорозита перед мейозом. Вследствие этого для *R. schlippenbachii* при нестабильных условиях произрастания характерны в большей степени нарушения в развитии пыльника. Укажем также на особенности пространственно-временной координации в развитии отдельных структур. У *R. schlippenbachii* происходит более раннее становление 2-слойной гипостазы (с началом мегаспорогенеза, а у *R. luteum* – во время формирования зародышевого мешка), и изгибание продольной оси с последующим формированием гемикампилотропного семязачатка.

Полученные нами данные по строению и развитию семени согласуются с литературными данными по другим представителям семейства *Ericaceae* (Анисимова, Шамров, Яковлева, 2005). Для исследуемых видов, как и для многих таксонов цветковых растений, произрастающих как в природе, так и в культуре, характерна гетероспермия (см. Анисимова, 2000).

В условиях интродукции выявлены различия в строении зародыша в семенах к моменту диссеминации. У *R. luteum* при неблагоприятных погодных условиях большая часть семян даже при наличии эндосперма может

подвергаться на стадии зиготы процессам деструкции различных структур (это, как правило, семена средней фракции). Тем не менее, всхожесть семян крупной фракции у изученных видов является высокой, что свидетельствует о том, что в целом процессы репродукции у них происходят без существенных нарушений, растения вполне адаптированы к условиям произрастания. Семена местной репродукции *R. schlippenbachii* и *R. luteum*, так же как и семена *R. fortunei* (Нгуен Тхи Иен, 2008), можно использовать для семенного размножения и получения посадочного материала

## ВЫВОДЫ

1. Результаты исследования репродуктивной биологии у *Rhododendron luteum* и *R. schlippenbachii*, различающихся комплексом биологических и экологических характеристик, свидетельствуют о том, что в условиях интродукции в ботанических садах Санкт-Петербурга, а также в дендрариях Приморского края процессы репродукции у них происходят сходно и без существенных нарушений. Однако сроки прохождения стадий морфогенеза у данных видов различаются и зависят от комплекса факторов, в том числе от условий мест произрастания.

2. Обоим видам присущи общие признаки строения тычинки (инверсия пыльников на ранних стадиях развития), пыльника (формирование стенки микроспорангия с дистальной стороны в соответствии с типом двудольных, или компликатной вариацией центробежного типа; симультанный тип образования тетраэдральных тетрад микроспор), пыльцевых зерен (объединены висциновыми нитями и остаются в тетрадах). Слои стенки микроспорангия со всех сторон образуются поэтапно на базе инициальных субэпидермальных клеток.

3. Исследование генезиса гинецея, семязачатка и семени выявило общие для *R. schlippenbachii* и *R. luteum* особенности данных структур. Для гинецея характерна вертикальная зональность от синкарпного многогнездного строения в основании до паракарпного одногнездного в верхней части завязи;

семязачаток сессильный, геми-кампилотропный, медионуцеллярный, унитегмальный, мезохалазальный, с гипостазой цитоплазматического типа и зародышевым мешком Polygonum-типа; семя экзотестальное с эндоспермальной полостью, эмбриогенез проходит по Solanad-типу, эндосперм формируется в соответствии с Ericaceae-вариацией целлюлярного типа.

4. Исследованные виды характеризуются сходными чертами биологии цветения и опыления: вскрывание пыльников порами, энтомофильность, аллогамия, чему способствуют протандрия и херкогамия. У *R. luteum* на завершающем этапе цветения может происходить контактная автогамия, что обусловлено особенностями строения цветка.

5. Развитие репродуктивных структур у изученных видов в условиях интродукции характеризуется наличием критических стадий: стадии сильновакуолизированных микроспор в пыльнике и стадии от зиготы до глобулярного зародыша в семени, от сроков прохождения которых зависит процент стерильных пыльцевых зерен и нежизнеспособных семян.

6. Исследуемым видам присуща гетероспермия, при этом распределение семян по фракциям (крупные – выполненные, с дифференцированным зародышем и эндоспермом; средние - уплощенные, зародыш отсутствует или останавливается в развитии, эндосперм сформирован не полностью; мелкие – семена без зародыша и эндосперма) сильно варьирует в зависимости от возрастного состояния растений, места произрастания и погодных условий. Показателем адаптации этих растений к условиям интродукции является высокая лабораторная всхожесть семян крупной фракции местной репродукции (Ботанический сад БИН РАН), что целесообразно учитывать при оптимизации семенного размножения *R. luteum* и *R. schlippenbachii.*, имеющих ресурсное значение.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Бабро А.А., Анисимова Г.М., Шамров И.И.. Репродуктивная биология *Rhododendron schlippenbachii* и *R. luteum* (Ericaceae) при интродукции в

ботанические сады г. Санкт-Петербурга // Растительные ресурсы. 2007. Т.43. Вып. 4. С. 1-13.

2. Шамров И.И., Бабро А.А. Развитие и строение пыльника у *Rhododendron schlippenbachii* и *R. luteum* (Ericaceae) // Ботанический журнал. 2008. Т. 93. № 8. С. 1219-1239.

3. Шамров И.И., Бабро А.А. Развитие и строение гинецея и семязачатка у *Rhododendron schlippenbachii* и *R. luteum* (Ericaceae) // Ботанический журнал. 2009. Т. 94. № 1. С. 58-74.

4. Анисимова Г.М., Бабро А.А., Шамров И.И., Сахарова С.Г.. Эмбриология *Rhododendron schlippenbachii* и *R. japonicum* (Ericaceae), интродуцированных в ботанических садах Санкт–Петербурга // Тезисы докладов II Международной конференции по анатомии и морфологии растений. — СПб: РАН, РБО, СПбНЦ, 2002. – С.122.

5. Бабро А. А. Состояние пыльцы *Rhododendron schlippenbachii* Maxim. (Ericaceae) в условиях интродукции // Тезисы VII Молодежной конференции ботаников в Санкт–Петербурге. СПб: "Буслай", 2000. – С. 214-215.

6. Бабро А.А. Репродуктивное состояние *Rhododendron schlippenbachii* и *Rhododendron japonicum* в ботанических садах Санкт-Петербурга // Изучение растительного мира Казахстана и его охрана: Материалы II Межд. молодежной ботанической конференции. - Алматы, 2003. – С. 162-166.

7. Бабро А.А. Некоторые данные по антокологии *Rhododendron* L. (Ericaceae) // Материалы I (IX) Международной Конференции Молодых Ботаников в Санкт-Петербурге. – СПб. Издательство ГЭТУ, 2006. С. 131.

8. Бабро А.А. Особенности развития андроеца *Rhododendron schlippenbachii* Maxim. (Ericaceae) // Материалы II межд. школы молодых ученых "Эмбриология, генетика и биотехнология". Уфа. Изд-во БГПУ. 2007. С.18-20.

9. Бабро А.А., Шамров И.И. Развитие и строение гинецея и семязачатка у *Rhododendron schlippenbachii* (Ericaceae) // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы всероссийской конференции. Часть 1. Структурная ботаника. Эмбриология и репродуктивная биология. – Петрозаводск: РБО, 2008 г. – С. 248-250.

10. Сахарова С. Г., Бабро А. А. Экологические и биологические причины репродуктивного состояния рододендронов на Северо–Западе России // Биологическое разнообразие. Интродукция растений: Материалы Второй Международной научной конференции — СПб: БИН РАН, 1999. – С. 252-253.

11. Anisimova Galina, Babro Anastasija, Shamrov Ivan, Saharova Svetlana. Ovule development and structure in cultivated bush *Rhododendron schlippenbachii* (Ericaceae)// XVIIIth International Congress on Sexual Plant Reproduction. Sexual Plant Reproduction in Nature and the Laboratory: Program and Abstracts. – Lublin: Maria Curie-Sklodowska University Press, 2002. – P. 26.

12. Babro A.A.. Anthecological aspects of reproductive biology of *Rhododendron schlippenbachii* and *R. luteum* // I Международная школа для молодых ученых «Эмбриология и биотехнология»: Программа и тезисы. – СПб: БИН РАН, 2005. С. 29.

13. Babro A.A.. Some aspects of reproductive biology of *Rhododendron schlippenbachii* // XVII International Botanical Congress: Abstracts. – Vienna, 2005. P. 414.